

Е.М. КИЩЕНКО, И.К. КОМАРНИЦКИЙ, Н.В. КУЧУК

Институт клеточной биологии и генетической инженерии

НАН Украины, Киев

E-mail: lena@iicb.kiev.ua

ТРАНСПОЗИЦИЯ *dSpm* ЭЛЕМЕНТА КУКУРУЗЫ В ТРАНСГЕННЫХ РАСТЕНИЯХ САХАРНОЙ СВЕКЛЫ



В результате агробактериальной трансформации получены трансгенные растения и клеточные линии сахарной свеклы, содержащие Spm/dSpm систему транспозонов кукурузы. Гетерологическая система мобильных элементов Spm/dSpm сохраняет активность в геноме сахарной свеклы, что открывает возможности клонирования генов и получения трансгенных растений сахарной свеклы без селективных маркеров.

© Е.М. КИЩЕНКО, И.К. КОМАРНИЦКИЙ, Н.В. КУЧУК,
2010

Введение. Мобильные генетические элементы (транспозирующиеся элементы, или транспозоны), впервые были открыты Б. Мак-Клинтон в 40-е годы прошлого столетия при анализе наследственной мозаичности у кукурузы *Zea mays* L. Ее работы положили начало учению о нестабильности и изменчивости генома [1, 2]. Позже обнаружили мобильные генетические элементы во многих про- и эукариотических организмах; были предложены гипотезы транспозиции и определены факторы, регулирующие их перемещение, а также доказана роль транспозонов в регуляции экспрессии генов и индукции хромосомных аберраций [3–6]. Благодаря способности транспозонов перемещаться по геному, в биотехнологии растений их успешно применяют для решения различных задач: 1) идентификации и клонирования генов (*англ.* transposon-based gene tagging) [7–10]; 2) получения трансгенных растений без селективных маркеров [11–13]; 3) создания серий трансгенных растений, отличающихся от исходного первичного трансформанта местом расположения транспозирующегося трансгена и, как следствие, уровнем его экспрессии из-за эффекта положения [11].

При переносе последовательностей мобильных генетических элементов в геном других видов методами генетической трансформации обнаружили, что они способны перемещаться и в гетерологическом окружении. Так, в работах [14–22] показано, что активность *Ac*-элемента кукурузы сохраняется при введении его в клетки табака, томата, картофеля, петунии, риса, пшеницы, рапса, арабидопсиса, моркови и тополя. Кроме того, есть данные, что *Ac/Ds* система кукурузы остается функциональной и у позвоночных [23]. Другой элемент кукурузы – *Spm* – способен к транспозиции в *Nicotiana tabacum*, *Solanum tuberosum*, *Arabidopsis thaliana*, *Orychophragmus violaceus*, *Medicago truncatula*, *Oryza sativa* и соматических гибридах представителей семейства *Brassicaceae* [24–32]. Для элемента *Mu-1* показано, что после трансформации растений томата, табака и арабидопсиса векторами, содержащими элемент *Mu-1*, он не перемещается [33]. Считается, что для его транспозиции нужны еще некие факторы, которые существуют только у гомологического хозяина кукурузы [34]. В гетерологическом окружении функциональность сохраняют не только транспозоны

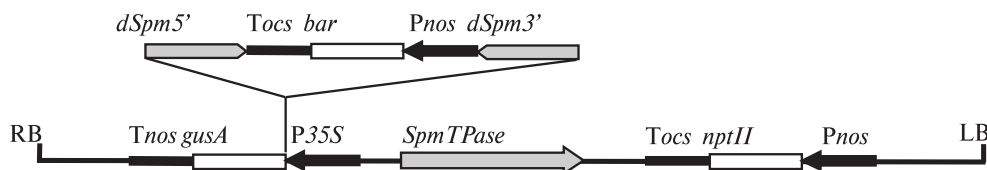


Рис. 1. Схематическое изображение Т-ДНК бинарного вектора pIC411: *bar* – ген фосфинотрицин-N-ацетилтрансферазы; *nptII* – ген неомицинфосфотрансферазы II; *gusA* – ген β-глюкуронидазы; *Pnos* – промотор гена нопалинсинтетазы; *P35S* – промотор 35S вируса мозаики цветной капусты; *Tocs* – терминатор гена октопинсинтетазы; *Tnos* – терминатор гена нопалинсинтетазы, *SpmTPase* – стабилизированный элемент *Spm* под контролем нативного промотора, кодирующий функциональные белки трансферазы; *dSpm3'*, *dSpm5'* – концевые инвертированные повторы неавтономного *dSpm*; RB, LB – правый и левый граничные повторы Т-ДНК

кукурузы *Ac/Ds*, *Spm/dSpm*, а также транспозоны *Tam3 Antirrhinum majus* [16], *Tag1 A. thaliana* [35, 36], *Tip100 Ipomoea purpurea* [37] и *Tnt1 N. tabacum* [38].

Среди мобильных генетических элементов растений в молекулярно-биологическом плане лучше всего изучены транспозоны *Zea mays* (*Ac/Ds*, *Spm/dSpm*), поэтому именно для кукурузы впервые была применена технология клонирования генов с использованием собственных (гомологических) транспозонов [8]. Позже с помощью функциональных транспозонов кукурузы идентифицированы и клонированы отдельные гены арабидопсиса, петунии, риса и табака, участвующие в процессах онтогенеза и метаболизма [9, 39–44]. В дальнейшем использование гетерологических транспозонов привело к бурному развитию функциональной геномики многих видов, включая и хозяйственно ценные [9, 22, 38, 45–49].

Об идентификации эндогенных транспозонов и/или транспозоноподобных последовательностей у сахарной свеклы сообщается лишь в нескольких работах [50–52]. Однако эти гомологические элементы недостаточно изучены, а их способность к транспозиции слишком мало исследована, чтобы использовать их в экспериментах по инсерционному мутагенезу у свеклы. Впрочем, до настоящего момента также остается неизвестным, сохраняют ли активность гетерологические системы транспозонов в геноме сахарной свеклы. Поэтому мы решили исследовать активность *Spm/dSpm* системы генетических элементов кукурузы в трансгенных клеточных линиях и растениях сахарной свеклы. Одним из главных преимуществ использования элементов семейства *Spm* является

их свойство перемещаться в несцепленные локусы по сравнению с *Ac/Ds* [9, 20, 27, 28], что в последующем облегчает идентификацию отдельных событий инсерции.

Материалы и методы. Для генетической трансформации сахарной свеклы использовали нопалиновый штамм *Agrobacterium tumefaciens* GV3101, несущий бинарный вектор pIC411 (рис. 1). Т-ДНК векторной конструкции pIC411 содержит последовательность *SpmTPase*, кодирующую функциональные белки трансферазы, но элемент не способен к перемещению из-за мутации в одном из концевых инвертированных повторов. Неавтономный *dSpm* элемент, содержащий ген *bar* между своими терминальными концами, расположен между промоторной и структурной частями гена *gusA*. Удаление *dSpm*, которое происходит при функционировании *SpmTPase*, приводит к реконструкции гена *gusA* и его экспрессии. Такой дизайн векторной конструкции позволяет на основании гистохимического анализа β-глюкуронидазы сделать вывод об активности *Spm/dSpm* системы в трансгенных клетках. Для отбора трансформированных растительных клеток вектор pIC411 содержит ген *nptII*.

В исследовательской работе использовали линии опылителей О-типа сахарной свеклы Киевский синтетик-3, Киевский синтетик-7 (КС 3 и КС 7) и линии СЦ 01733, СЦ 023–2 и СЦ 03441. Семена линий СЦ 01733, СЦ 023–2 и СЦ 03441 любезно предоставил А.Г. Кулик (Институт сахарной свеклы УААН, Киев), семена линий КС 3 и КС 7 – д-р биол. наук Ф.Н. Парий (Уманский государственный аграрный университет). Для введения в асептическую культуру семена сахарной свеклы по-

верхностно стерилизовали согласно протоколу, описанному в [53]. Трансгенные растения сахарной свеклы получали, используя методику генетической трансформации, разработанную нами ранее [54]. Первичный каллус индуцировали на селективной среде с 100 мг/л канамицина, регенерацию и укоренение также проводили на питательных средах, содержащих 100 мг/л канамицина.

Для подтверждения наличия трансгенов у полученных устойчивых к селективным агентам растений сахарной свеклы проводили ПЦР-анализ ДНК, выделенной согласно ЦТАБ-методу [55], на амплификаторе «Терцик IM02» («ДНК-технология», Россия). Для амплификации участка последовательности гена *nptII* использовали праймеры 5'-CCTGAATGAACCTCCAGGACGAGGCA-3' и 5'-GCTCTAGATCCAGAGTCCCCGCTCAGAAG-3' (продукт амплификации – 637 п.н.), для *bar* – 5'-ATGAGC-CCAGAACGACGCCGCGCC-3' и 5'-GCATGCGCACGGTTCGGTTCGTTGG-3' (414 п.н.), для *gusA* – 5'-TGGGTGGACGATATCACCGTGGTGA-3' и 5'-GGCCCCAATCCAGTCCATTAATGCG-3' (423 п.н.), для *SpmTPase* – 5'-GACAACACTGTCCAGCCAAGAC-3' и 5'-TCCTCCGCTTATGTGATATGC-3' (600 п.н.). Проводили 35 циклов: денатурация при 94 °C (60 с), отжиг при 65 °C (60 с), синтез при 72 °C (30 с). Температура отжига при амплификации последовательности *gusA* была несколько ниже – 56 °C. Продукты амплификации определяли в 1%-ном агарозном геле.

Результаты исследований и их обсуждение. Генетическую трансформацию сахарной свеклы линий КС 3, КС 7, СЦ 01733, СЦ 023–2 и СЦ 03441 проводили с помощью нопалинового штамма *A. tumefaciens* GV3101, несущего бинарный вектор pIC411, используя метод, разработанный нами ранее [54]. В результате селекции на канамицин-содержащих питательных средах было отобрано 28 каллусных клонов. При перенесении их на питательную среду с 10 мг/л фосфинотрицина все клоны оказались устойчивыми и к гербициду. Полученные клоны анализировали на предмет активности β-глюкуронидазы, экспрессия которой возможна лишь при условии эксцизии элемента *dSpm*. Большинство клонов (23 из 28), проанализированных с помощью гистохимической реакции,

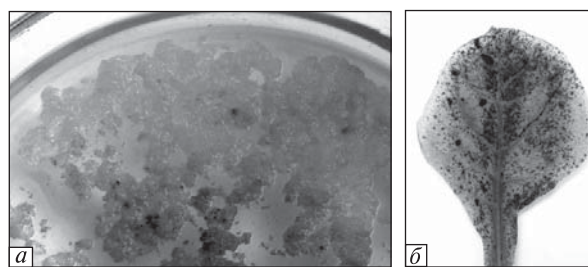


Рис. 2. Анализ β-глюкуронидазной активности в трансгенной каллусной линии СЦ 023–2/1 (а) и листке (б) регенерировавшего из нее растения, трансформированного вектором pIC411

Результаты анализа β-глюкуронидазной активности в трансгенных каллусных линиях сахарной свеклы, трансформированных pIC411

Линия	Количество трансгенных каллусных линий					
	общее			из них морфогенных		
	+GUS*	-GUS**	Суммарное	+GUS*	-GUS**	Суммарное
КС 3	5	1	6	0	0	0
КС 7	10	3	13	4	1	5
СЦ 01733	1	0	1	0	0	0
СЦ 023-2	5	1	6	4	0	4
СЦ 03441	2	0	2	0	0	0

* Количество клонов, экспрессирующих ген *gusA*. ** Количество GUS-отрицательных клонов.

имели специфическую окраску в виде синих точек, а также пятен разной площади и плотности расположения (рис. 2, таблица). Плотность расположения окрашенных участков указывает на активность транспозазы *SpmTPase*, а площадь – на время, прошедшее с момента эксцизии неавтономного элемента *dSpm*.

Для пяти каллусных клонов линии КС 7 и четырех клонов линии СЦ 023–2 получены растения-регенеранты. Листья растений-регенерантов также имели специфическую мозаичную окраску, что указывает на активность транспозазы и, как следствие, на эффективную эксцизию неавтономного транспозона *dSpm* (рис. 2, таблица).

Молекулярно-генетический анализ полученных растений проводили методом ПЦР с использованием праймеров, специфических к генам *bar*, *nptII*, *SpmTPase* и *gusA*. На рис. 3

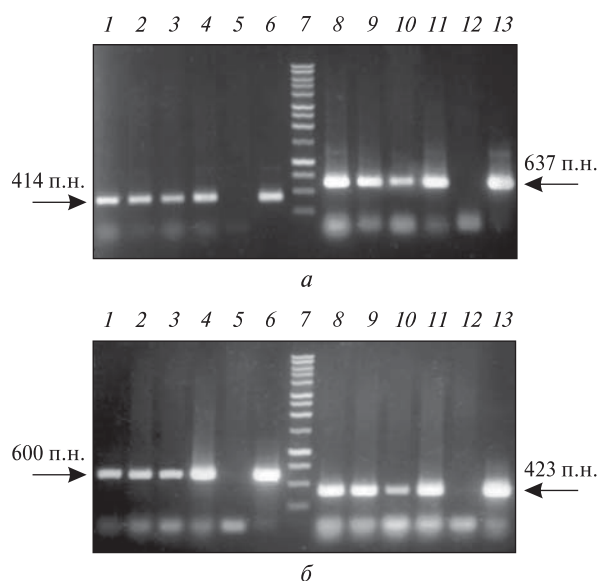


Рис. 3. ПЦР-анализ суммарной ДНК растений сахарной свеклы, трансформированных вектором pIC411. Электрофореграмма продуктов ПЦР-анализа с использованием праймеров, специфичных к последовательности генов: *a* – *bar* (1–6); *nptII* (8–13); *б* – *SptTPase* (1–6); *gusA* (8–13); 1–4, 8–11 – ДНК трансформированных растений СЦ 023–2/75.411–1; СЦ 023–2/75.411–2, СЦ 023–2/75.411–3, КС 7/281.411–2; 5, 12 – отрицательный контроль, ДНК исходной нетрансформированной линии СЦ 023–2; 6, 13 – положительный контроль, плазмидная ДНК pIC411; 7 – ДНК-маркер (GibcoBRL)

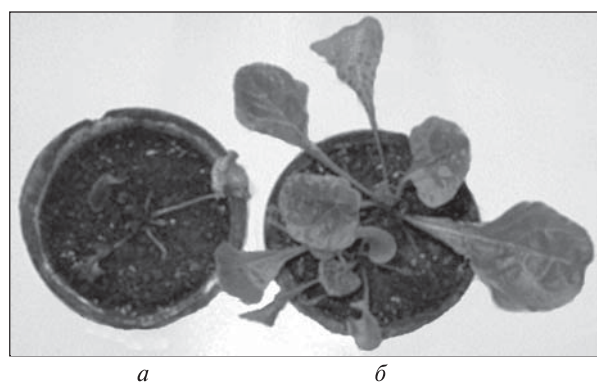


Рис. 4. Тест на устойчивость к гербициду «Harvest» (2,5 мл/л): *a* – контрольное растение сахарной свеклы линии КС 7; *б* – растение сахарной свеклы КС 7/281.411–2, трансформированное вектором pIC411

приведены результаты ПЦР-анализа для четырех растений, трансформированных вектором pIC411. Как видно из электрофореграммы, раз-

меры амплифицированных фрагментов ДНК соответствуют рассчитанным, что подтверждает наличие этих трансгенов у трансформированных растений сахарной свеклы.

Трансгенные растения сахарной свеклы после укоренения переносили в почву и обрабатывали препаратом «Harvest» (глюфозинат аммония, «Hoechst & Schering Agrevo, King's Lynn», Великобритания) в концентрации 2,5 мл/л. Растения, трансформированные pIC411 и несущие ген *bar*, проявляли устойчивость к гербициду в условиях теплицы (рис. 4).

Согласно данным литературы автономный *Spt*-элемент транспозируется в табаке [10, 32], картофеле [25], арабидопсисе [9], оригофрагмусе [26], межтрибных соматических гибридах семейства *Brassicaceae* [29–31], люцерне [27] и рисе [28]. Нами впервые показана активность гетерологической системы *Spt/dSpt* генетических элементов кукурузы в трансгенных клеточных линиях и растениях сахарной свеклы.

В соматических тканях достаточно сложно количественно определить частоту эксцизии транспозона [25], однако можно сделать выводы об активности транспозона у отдельных особей [20]. Частоту соматической эксцизии у полученных растений сахарной свеклы (приблизительно 80 %) можно сравнить с аналогичным показателем у арабидопсиса [9] и табака [32]. Для люцерны [27] и риса [28] показано, что *Spt*-элемент транспозируется с низкой частотой и проявляется лишь на ранних стадиях культивирования *in vitro* в течение короткого промежутка времени. Авторы предполагают, что это происходит в результате умолкания перенесенных генов (*англ.* gene silencing), которое предотвращает перемещение как гомологических, так и гетерологических транспозонов. Такое свойство присуще видам со значительным количеством собственных мобильных генетических элементов в геноме.

Выводы. В результате наших опытов были получены трансгенные растения сахарной свеклы, содержащие функциональные транспозоны, что открывает возможность для создания мутантов и последующего клонирования генов у этого важного сельскохозяйственного вида. Кроме того, возникает перспектива использования транспозонов для получения

трансгенных растений сахарной свеклы без селективных маркеров.

E.M. Kishchenko, I.K. Komarnitskii, N.V. Kuchuk

TRANSPOSITION OF THE
MAIZE TRANSPOSABLE ELEMENT *dSpm*
IN TRANSGENIC SUGAR BEETS

Transgenic sugar beet plants carrying maize *Spm/dSpm* transposable elements system have been constructed. Heterologous system of maize transposable elements *Spm/dSpm* was active in transgenic sugar beets that permits transposon-based gene tagging and obtaining of marker-free transgenic sugar beet.

O.M. Кіщенко, І.К. Комарницький, М.В. Кучук

ТРАНСПОЗИЦІЯ *dSpm* ЕЛЕМЕНТА
КУКУРУДЗИ В ТРАНСГЕННИХ РОСЛИНАХ
ЦУКРОВОГО БУРЯКУ

В результаті агробактеріальної трансформації отримано трансгенні рослини цукрового буряку, які містять функціональну *Spm/dSpm* систему транспозонів кукурудзи. Гетерологічна система мобільних елементів зберігає активність в геномі цукрового буряку, що відкриває можливості для клонування генів та отримання трансгенних рослин цукрового буряку без селективних маркерів.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хесин Р.В. Непостоянство генома. — М.: Наука, 1984. — 472 с.
2. Чернышов А.И. Молекулярная организация генома растений // Стабильность и изменчивость генома / Под ред. Ю.Ф. Боганова. — М.: Наука, 1985. — С. 5—15.
3. Gorbunova V., Levy A. A analysis of extrachromosomal *Ac/Ds* transposable elements // Genetics. — 2000. — **155**. — P. 349—359.
4. Kitamura K., Hashida Sh., Mikami T., Kishima Y. Position effect of the excision frequency of the *Antirrhinum* transposon *Tam3*: implications for the degree of position-dependent methylation in the ends of the element // Plant Mol. Biol. — 2001. — **47**. — P. 475—490.
5. Bennetzen J.L. Transposable element contributions to plant gene and genome evolution // Plant Mol. Biol. — 2000. — **42**. — P. 251—269.
6. Weil C., Martienssen R. Epigenetic interactions between transposons and genes: lessons from plants // Curr. Opin. Genet. Devel. — 2008. — **18**. — P. 188—192.
7. Ramachandran S., Sundaresan V. Transposons as tools for functional genomics // Plant Physiol. Biochem. — 2001. — **39**. — P. 243—252.
8. Fedoroff N.V., Furek D., Nelson O.E. Cloning of the *bronze* locus in maize by a simple and generalised procedure using the transposable controlling element // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1984. — **81**. — P. 3825—3829.
9. Aarts M.G.M., Dirkse W.G., Stiekema W.J., Pereira A. Transposon tagging of a male sterility gene in *Arabidopsis thaliana* // Nature. — 1993. — **363**, № 6431. — P. 715—718.
10. Qu S., Desai A., Wing R., Sundaresan V. A versatile transposon-based activation tag vector system for functional genomics in cereals and other monocot plants // Plant Physiol. — 2008. — **146**. — P. 189—199.
11. Goldsbrough A.P., Lastrella C.N., Yoder J.I. Transposition mediated repositioning and subsequent elimination of marker genes from transgenic tomato // BioTech. — 1993. — **11**. — P. 1286—1292.
12. Yoder J.I., Palys J., Alpert K., Lassner M. *Ac* transposition in transgenic tomato plants // Mol. Gen. Genet. — 1988. — **213**. — P. 291—296.
13. Ebinuma H., Sugita K., Matsunaga E., Yamacado M. Selection of marker-free transgenic plants using the isopentenyl transferase gene // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1997. — **94**. — P. 2117—2121.
14. Baker B., Schell J., Lorz H., Fedoroff N. Transposition of the maize controlling element «Activator» in tobacco // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 1986. — **83**, № 13. — P. 4844—4848.
15. Knapp S., Coupland G., Uhrig H. et al. Transposition of the maize transposable element *Ac* in *Solanum tuberosum* // Mol. Gen. Genet. — 1988. — **213**. — P. 285—290.
16. Haring M.A., Gao J., Volbeda T., Rommens C.M.T. et al. A comparative study of *Tam3* and *Ac* transposition in transgenic tobacco and *Petunia* plants // Plant Mol. Biol. — 1989. — **13**. — P. 189—201.
17. Murai N., Li Z., Kawagoe Y., Hayashimoto A. Transposition of the maize *activator* element in transgenic rice plants // Nucl. Acids Res. — 1991. — **19**, № 3. — P. 617—622.
18. Takumi S., Murai K., Mori N., Nakamura C. Trans-activation of maize transposable element in transgenic wheat plants expressing the *Ac* transposase gene // Theor. Appl. Genet. — 1999. — **98**. — P. 947—953.
19. Babwah A.V., Waddell C.S. Trans-activation of the maize transposable element, *Ds*, in *Brassica napus* // Theor. Appl. Genet. — 2002. — **104**. — P. 1141—1149.
20. Dean C., Sjodin K., Page T., Jones J., Lister C. Behaviour of the maize transposable element *Ac* in *Arabidopsis thaliana* // Plant J. — 1992. — **2**, № 1. — P. 69—81.
21. Van Sluys M.A., Tempe J., Federoff N. Studies on the introduction and mobility of the maize *Activator* element in *Arabidopsis thaliana* and *Daucus carota* // EMBO J. — 1987. — **6**. — P. 3881—3889.
22. Kumar S., Fladung M. Somatic mobility of the maize element *Ac* and its utility for gene tagging in aspen // Plant Mol. Biol. — 2003. — **51**. — P. 643—650.
23. Emelyanov A., Gao Y., Naqvi N.I., Parinov S. Trans-

- kingdom transposition of the maize dissociation element // *Genetics*. – 2006. – **174**. – P. 1095–1104.
24. Cardon G.H., Frey M., Saedler H., Gierl A. Definition and characterization of an artificial *En/Spm*-based transposon tagging system in transgenic tobacco // *Plant Mol. Biol.* – 1993. – **23**, № 1. – P. 157–178.
 25. Frey M., Tavantsiz S.M., Saedler H. The maize *En-I/Spm* element transposes in potato // *Mol. Gen. Genet.* – 1989. – **217**. – P. 172–177.
 26. Сахно Л.А., Сытник Е.С., Череп Н.Н. и др. Активность системы *Spm* транспозонов кукурузы у трансгенных растений *Orychophragmus violaceus* (L.) О.Е. Shultz, полученных путем как прямого переноса ДНК в протопласты, так и агробактериальной трансформацией корневых эксплантов // *Цитология и генетика*. – 2002. – **36**, № 6. – С. 3–8.
 27. D'Erforth I., Cosson V., Eschstruth A. et al. Rapid inactivation of the maize transposable element *En/Spm* in *Medicago truncatula* // *Mol. Genet. Genom.* – 2003. – **269**. – P. 732–745.
 28. Greco R., Ouwerkerk P.B.F., Taal A.J.C. et al. Transcription and somatic transposition of the maize *En/Spm* transposon system in rice // *Mol. Genet. Genom.* – 2004. – **270**. – P. 514–523.
 29. Овчаренко О.О., Комарницкий И.К., Череп М.Н. та ін. Отримання міжтрибних соматичних гібридів *Brassica juncea* + *Arabidopsis thaliana* та дослідження поведінки трансгенних ознак // *Цитология и генетика*. – 2004. – **38**, № 3. – С. 3–8.
 30. Овчаренко О.О., Комарницкий И.К., Череп М.Н. та ін. Отримання міжтрибних соматичних гібридів ди-геномного (*Orychophragmus violaceus* + *Arabidopsis thaliana*) та тетрагеномного (*Orychophragmus violaceus* + *Brassica juncea* + *Arabidopsis thaliana*) походження та їх використання для вивчення поведінки гетерологічної системи транспозонів *Spm/dSpm* // *Біополімери та клітина*. – 2005. – **21**, № 1. – С. 35–41.
 31. Овчаренко О.О., Комарницкий И.К., Череп М.Н. та ін. Отримання і аналіз соматичних гібридів *Brassica napus* + *Arabidopsis thaliana*, що містять гетерологічну систему транспозонів *Spm/dSpm* // *Цитология и генетика*. – 2005. – **39**, № 3. – С. 50–56.
 32. Masson P., Fedoroff N.V. Mobility of maize Suppressor-Mutator element in transgenic tobacco cells // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1989. – **86**. – P. 2219–2223.
 33. Zhang H., Somerville C.R. Transfer of the maize transposable element *Mu1* into *Arabidopsis thaliana* // *Plant Sci.* – 1987. – **48**. – P. 165–173.
 34. Strommer J.A., Ortiz D. *Mu-1*-induced mutant alleles of maize exhibit background depend changes in expression an RNA processing // *Devel. Genet.* – 1989. – **10**. – P. 452–459.
 35. Frank M.J., Liu D., Tsay Y.F. et al. *Tag1* is an autonomous transposable element that shows somatic excision in both *Arabidopsis* and tobacco // *Plant Cell*. – 1997. – **9**. – P. 1745–1756.
 36. Liu D., Zhang S., Fauquet C., Crawford N.M. The *Arabidopsis* transposon *Tag1* is active in rice, undergoing germinal transposition and restricted, late somatic excision // *Mol. Gen. Genet.* – 1999. – **262**. – P. 413–420.
 37. Ishikawa N., Jozuka-Hisamoti Y., Sugita K. et al. The transposon *Tip100* from the common morning glory is an element that can transpose in tobacco plant // *Mol. Genet. Genom.* – 2002. – **266**. – P. 732–739.
 38. Mazier M., Botton E., Flamain F. et al. Successful gene tagging in lettuce using the *Tnt1* retrotransposon from tobacco // *Plant Physiol.* – 2007. – **144**. – P. 18–31.
 39. Wisman E., Hartmann U., Sagasser M. et al. Knock-out mutants from an *En-I* mutagenized *Arabidopsis thaliana* population generate phenylpropanoid biosynthesis phenotypes // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. – 1998. – **95**. – P. 12432–12437.
 40. Bancroft I., Jones J., Dean C. Heterologous transposon tagging of the *DRL1* locus in *Arabidopsis* // *Plant Cell*. – 1993. – **5**. – P. 631–638.
 41. Chuck G., Robbins T., Nijjar C. et al. Tagging and cloning of a petunia flower colour gene with the maize transposable element *Activator* // *Plant Cell*. – 1993. – **5**. – P. 371–378.
 42. Jones D.A., Thomas C.M., Hammond-Kosack K.E. et al. Isolation of the tomato *cf-9* gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging // *Science*. – 1994. – **266**. – P. 789–793.
 43. Majira A., Domin M., Grandjean O. et al. Seedling lethality in *Nicotiana plumbaginifolia* conferred by *Ds* transposable element insertion into a plant-specific gene // *Plant Mol. Biol.* – 2002. – **50**. – P. 551–562.
 44. Zhu Q.-H., Ramm K., Shivakkumar R. et al. The *ANTHER INDEHISCENCE1* gene encoding a single MYB domain protein is involved in anther development in rice // *Plant Physiol.* – 2004. – **135**. – P. 1514–1525.
 45. Gidoni D., Fuss E., Burbidge A. et al. Multi-functional T-DNA/Ds tomato lines designed for gene cloning and molecular and physical dissection of the tomato genome // *Plant Mol. Biol.* – 2003. – **51**. – P. 83–98.
 46. Schneider A., Kirch T., Gigolashvili T et al. A transposon-based activation-tagging population in *Arabidopsis thaliana* (TAMARA) and its application in the identification of dominant developmental and metabolic mutations // *FEBS Lett.* – 2005. – **579**. – P. 4622–4628.
 47. Kumar C.S., Wing R.A., Sundaesan V. Efficient insertional mutagenesis in rice using the maize *En/Spm* elements // *Plant J.* – 2005. – **44**. – P. 879–892.
 48. Panjabi P., Burma P. K., Pental D. Use of the transposable element *Ac/Ds* in conjunction with *Spm/dSpm* for

- gene tagging allows extensive genome coverage with a limited number of starter lines: functional analysis of a four-element system in *Arabidopsis thaliana* // Mol. Genet. Genom. — 2006. — **276**. — P. 533–543.
49. Mathieu M., Winters E.K., Kong F. et al. Establishment of a soybean (*Glycine max* Merr. L) transposon-based mutagenesis repository // Planta. — 2009. — **229**. — P. 279–289.
50. Schmidt T., Kubis S., Heslop-Harrison J.S. Analysis and chromosomal localization of retrotransposons in sugar beet (*Beta vulgaris* L.): LINEs and Ty1-copia-like elements as major components of the genome // Chromosome Res. — 1995. — **3**. — P. 335–345.
51. Jacobs G., Dechyeva D., Menzel G. et al. Molecular characterization of *Vilmar1*, a complete maininer transposon of sugar beet and diversity of mariner- and *En/Spm*-like sequences in the genus *Beta* // Genome. — 2004. — **47**. — P. 1192–1201.
52. Kuykendall D., Shao J., Trimmer K. *Coe1* in *Beta vulgaris* L. has a *Tnp2*-domain DNA transposase gene within putative LTRs and other retroelement-like features // Int. J. Plant Genom. — 2008. — ID 360874, doi:10.1155/2008/360874.
53. Кищенко Е.М., Кучук Н.В. Влияние экзогенных углеводов на эффективность генетической трансформации табака и сахарной свеклы с помощью *Agrobacterium tumefaciens* // Физиология и биохимия культур. растений. — 2005. — **37**, № 2. — С. 160–166.
54. Кищенко О.М., Комарницкий И.К., Глеба Ю.Ю., Кучук М.В. Отримання трансгенних рослин цукрового буряку (*Beta vulgaris* L.) ліній О-типу за допомогою *Agrobacterium tumefaciens* // Цитология и генетика. — 2004. — **38**, № 5. — С. 3–8.
55. Генная инженерия растений. Лабораторное руководство : Пер. с англ. / Под ред. Дж. Дрейпера, Р. Скотта, Ф. Армитиджа, Р. Уолдена. — М.: Мир, 1991. — 408 с.

Поступила 01.12.09